

农科院区划所程宪国：NMT 发现亚精胺促盐碱胁迫下种子耗 O₂ 及 Ca²⁺、H₂O₂ 积累 揭示亚精胺影响种子渗透调节的途径

ORIGINAL RESEARCH article

Front. Plant Sci., 13 October 2021 | <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.701538>

Exogenous Spermidine Priming Mitigates the Osmotic Damage in Germinating Seeds of *Leymus chinensis* Under Salt-Alkali Stress

Chen Hongna^{1,2}, Shi Junmei², Tao Leyuan¹, Han Xiaori², Lin Guolin² and Cheng Xianguo^{1*}

一、基本信息

研究使用平台：NMT 植物耐盐创新平台

期刊：Frontiers in Plant Science

主题：NMT 发现亚精胺促盐碱胁迫下种子耗 O₂ 及 Ca²⁺、H₂O₂ 积累揭示亚精胺影响种子渗透调节的途径标题：Exogenous Spermidine Priming Mitigates the Osmotic Damage in Germinating Seeds of *Leymus chinensis* Under Salt-Alkali Stress

影响因子：5.753

作者：中国农业科学院农业资源与农业区划研究所程宪国、陈红娜

获奖情况：该成果获得 2021-2022 年度“中关村优秀 NMT 成果奖”二等奖

二、检测离子 / 分子指标

O₂、H₂O₂、Ca²⁺

三、样品信息

羊草种子，种子胚顶部和种子胚乳 1/2 处

四、中文摘要

众所周知，亚精胺（Spd）是保护参与植物生理生化过程的大分子物质。然而，Spd 也可能

在盐碱胁迫下对羊草（*Leymus chinensis*）种子萌发起渗透调节作用。为了进一步研究这一点，将羊草种子用 Spd 溶液或蒸馏水浸泡，将浸泡后的种子播种于盐碱土中进行培养试验。有资料表明，Spd 引发使萌发种子可溶性糖含量增加 50% 以上，脯氨酸含量增加 30% 以上。此外，Spd 引发使萌发种子过氧化氢酶活性增加 30% 以上，过氧化物酶活性增加 25% 以上，有效缓解了盐碱胁迫下萌发种子质膜的氧化损伤。此外，种子的 Spd 引发影响盐碱胁迫下萌发种子中多胺（PA）的积累，维持参与生理代谢的大分子物质的活性。此外，Spd 引发处理使萌发种子的过氧化氢（H₂O₂）水平提高到 30% 以上，Ca²⁺ 浓度提高到 20% 以上，从而通过有益的激素富集打破了羊草种子的休眠诱导途径。本研

收稿日期：2023-05-25

编辑作者 E-mail:yanhan@nmtia.org.cn

doi:10.5281/zenodo.8317631

究揭示了外源性 Spd 引发羊草种子过程中 Spd 介导的调控途径, 该途径可减轻渗透性和氧化性损伤, 维持细胞脂膜的完整性。因此, 外源 Spd 启动提高了 PA 氧化酶活性, 维持了 H_2O_2 的积累。研究发现, H_2O_2 对 Ca^{2+} 和激素的平衡产生了有益的影响, 促进了羊草在应对盐碱胁迫时的活力和萌发。

五、离子 / 分子流实验处理方法

- ① 0/1 mM Spd 溶液中浸泡 12 h, 盐碱土培养 3 d 后的羊草种子。
- ② 1 mM Spd 溶液中浸泡 12 h, 盐碱土培养 3 d 后的羊草种子, 蒸馏水、1 mM DPI、1 mM KI 室温浸泡 3h。

六、离子 / 分子流实验结果

前期研究表明, 种子活力与氧气内流量显著相关。因此研究用非损伤微测技术 (NMT) 检测了羊草种子中的氧气内流速率。结果表明, 在盐碱胁迫条件下, 亚精胺处理后种子中的氧气内流速率显著提高, 约为对照种子的五倍 (图 1)。

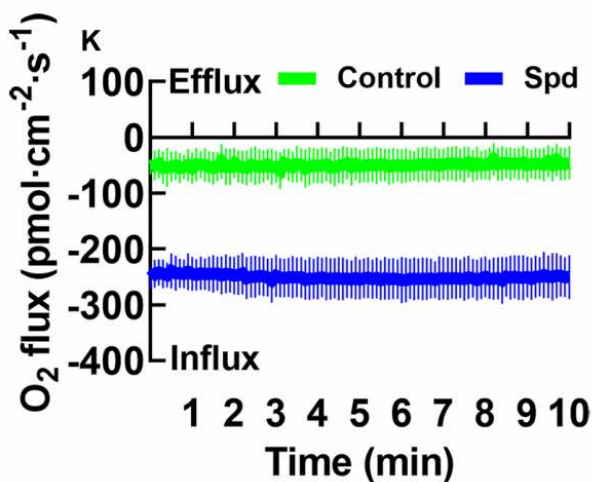


图 1. 盐碱胁迫条件下, 外源亚精胺对羊草种子 O_2 净流速的影响。负值表示离子吸收。

为了进一步表征亚精胺对种子胚部位 H_2O_2 和 Ca^{2+} 积累的影响, 用 NMT 检测了种子胚乳中部和种子胚顶部的 H_2O_2 和 Ca^{2+} 的流速。与对照种子不同, 亚精胺预处理的种子表现出显著的 H_2O_2 内流, 并且亚精胺预处理后种子胚中的 H_2O_2 净内流速率显著高于种子胚乳中的净内流速率。此外, 两种处理均表现出明显的 Ca^{2+} 外排, 而亚精胺处理后种子中 Ca^{2+} 的整体外排速率显著低于对照, 亚精胺处理后种子胚中 Ca^{2+} 的外排速率显著低于种子胚乳 (图 2)。

此外, 种子胚中 Ca^{2+} 浓度的空间成像结果表明, 暴露于水微环境的种子中 Ca^{2+} 浓度梯度不明显, 而种子表面附近的 Ca^{2+} 浓度略高于水环境中的 Ca^{2+} 浓度。但 DPI 或 KI 处理后种子微环境中 Ca^{2+} 梯度较大, 且种子表面附近 Ca^{2+} 浓度也显著高于水环境中 Ca^{2+} 浓度, 暗示着 DPI 和 KI 处理中 Ca^{2+} 外排速率显著提高 (图 3)。

七、其它实验结果

- 亚精胺改善羊草种子的萌发前代谢。结果表明, 与对照种子相比, 亚精胺预处理的种子内源亚精胺含量增加了 51.63%, 内源精胺增加了 23.73%, PAO 酶活性增加了 49.84%。同时, H_2O_2 含量增加了 36.65%; 此外, CAT 和 POD 的酶活性分别增加了 32.18% 和 26.37%; 与对照种子相比, 亚精胺预处理的种子可溶性糖含量增加 53.94%, 脯氨酸含量增加 30.72%, 电导率降低 11.39%; 此外, 亚精胺预处理的种子 Ca^{2+} 和 K^+ 含量没有增加, 但细胞质中 Ca^{2+} 和 K^+ 的荧光强度显著增强; 外源亚精胺显著降低了种子 ABA 的积累, 并降低了 ABA 与 GA_3 的比例。
- 亚精胺促进羊草种子萌发和活力。与对照种子相比, 亚精胺预处理的种子发芽率提高了 33.66%; 亚精胺预处理的种子发芽速度显著高于对照; 亚精胺预处理显著提高了 17 天龄幼苗的鲜重和株高; 亚精胺预处理不仅提高了种子

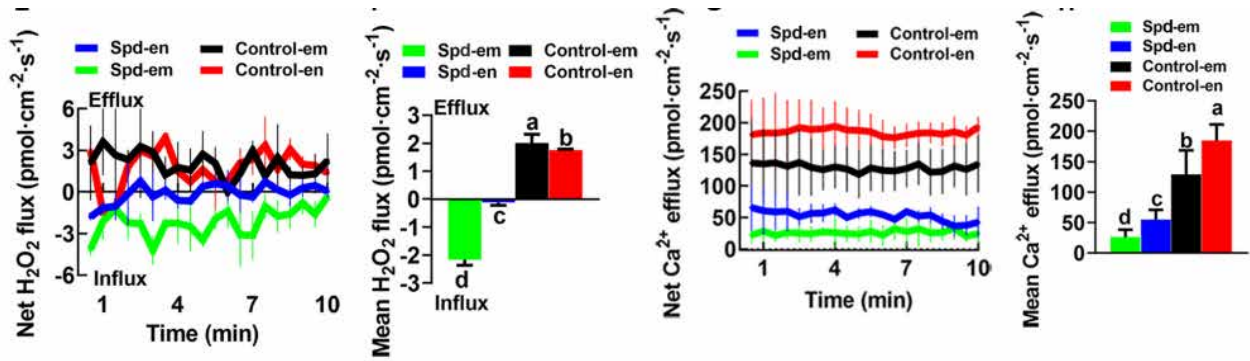


图 2. 盐碱胁迫条件下，外源亚精胺对羊草种子胚和胚乳 H₂O₂ 和 Ca²⁺ 净流速的影响。正值代表离子 / 分子外排，负值表示离子 / 分子吸收。

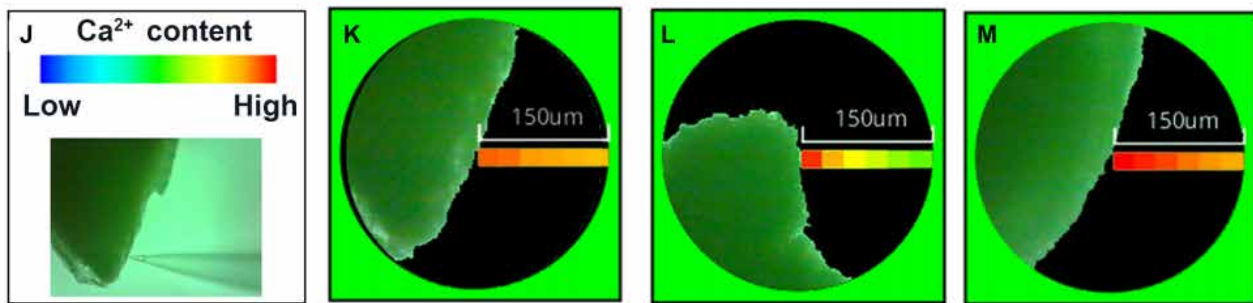


图 3. 盐碱胁迫条件下，外源 DPI 或 KI 对羊草种子表明 Ca²⁺ 浓度梯度的影响。

的活力，而且对盐碱土中的种子活力也有积极影响。

- 亚精胺减少盐碱胁迫下的种子休眠时间。与对照处理相比，亚精胺预处理显著提高了种子中 GA₃ 的含量，降低了 ABA 的积累，从而导致盐碱胁迫条件下种子 ABA 与 GA₃ 的比值降低；此外，在盐碱胁迫下播种 1-3 天后，亚精胺预处理的种子中 IAA 的含量显著提高。

- 外源亚精胺间接刺激胞质 Ca²⁺ 信号。与对照处理相比，亚精胺预处理导致羊草种子中 H₂O₂ 积累增加 30.38%，Ca²⁺ 积累增加了 21.17%；为了进一步验证这一结果，研究使用 DCFH2-DA 和 Fura-2-AM 作为探针，定量分析了萌发种子中 H₂O₂ 和 Ca²⁺ 的相对分布。结果表明，亚精胺预处理后萌发种子中 H₂O₂ 和 Ca²⁺ 的荧光强度显著强于对照，亚精胺预处理种子中 H₂O₂ 和 Ca²⁺ 均表现出在胚中更特异的积累和富集。

- 亚精胺通过影响多胺氧化酶活性维持过氧化氢的平衡。与对照处理相比，外源亚精胺处理显著提高了盐碱胁迫下羊草种子的 POD、GR、APX 和 CAT 酶活性；与对照处理相比，亚精胺预处理的种子中的 PA 氧化酶活性增加了 2.49 倍；此外，与对照萌发种子相比，亚精胺预处理后的种子中的亚精胺合酶活性和编码亚精胺合酶基因的相对表达量分别增加了 1.19 倍和 1.94 倍；同样，亚精胺预处理后种子中的亚精胺含量在播种 1 天后增加了 2.19 倍，在播种 3 天后增加了 2.03 倍。

- 亚精胺减轻盐碱胁迫对质膜的损伤。在盐碱胁迫下，与对照相比，亚精胺预处理促进萌发种子中脯氨酸和可溶性糖含量积累；此外，与对照种子相比，亚精胺预处理种子中 SOD 活性在培养 3 天后增加了 52.67%；与对照处理相比，亚精胺预处理的种子中超氧阴离子的荧光强度

较弱，超氧阴离子含量也显示相似的趋势；与对照处理相比，亚精胺预处理的种子中的 MDA 含量在培养 1 天后下降了 16.33%，在培养 3 天后下降了 27.02%；值得注意的是，两种处理种子电导率的变化与 MDA 的积累完全一致。

● 亚精胺改变了差异表达基因的富集谱。转录组测序数据表明，与对照种子相比，亚精胺预处理的种子中共有 1195 个基因表现出显著差异表达，其中 770 个基因表达上调，425 个基因表达下调；GO 富集分析表明重要的 GO 术语分为生物过程、细胞成分和分子功能三个亚类，上调的 DEG 基因主要参与代谢过程和分子功能的生物调控。参与生物过程的 DEGs 影响氧化还原过程、调节初级代谢过程、分解代谢过程、离子跨膜转运、应激反应和脂质代谢过程；而参与分子功能的 DEGs 参与离子结合，如作为钙调蛋白结合转录激活剂；氧化还原酶活性，例如 NAD(P)- 连接的氧化还原酶；阴离子结合；碳水化合物衍生物结合；和离子跨膜转运蛋白活性，例如无机磷酸盐转运蛋白。KEGG 分析还表明 DEGs 主要参与氧化磷酸化、氮代谢，如谷胱甘肽 S- 转移酶；柠檬酸循环 (TCA 循环)；碳代谢，如 1, 3-β- 葡聚糖基转移酶；次生代谢物和氨基酸的生物合成。

八、结论

如图 4 所示，外源亚精胺不仅在增加兼容性代谢物的积累方面发挥渗透调节作用，而且还参与萌发种子中 PA (多胺) 合成途径以增强 PAO 酶 (PA 氧化酶) 活性，从而在盐碱胁迫下平衡羊草种子中 H_2O_2 的产生和去除过程中发挥调节作用。在盐碱胁迫下， H_2O_2 的有益积累促进了细胞质 Ca^{2+} 的积累， H_2O_2 和胞质 Ca^{2+} 信号共同维持了羊草萌发种子中 ABA 和 GA 之间的平衡，从而缩短了休眠期，提高了种子活力和发芽率。亚精胺介导过程中内源性 PAs、 H_2O_2 和 Ca^{2+} 在细胞质和激素的有益积累表明，这项

研究不仅揭示了盐碱条件下羊草萌发种子中亚精胺引发的调控途径的新见解，同时也为适当施加外源 PA 促进植物种子萌发提供科学参考。

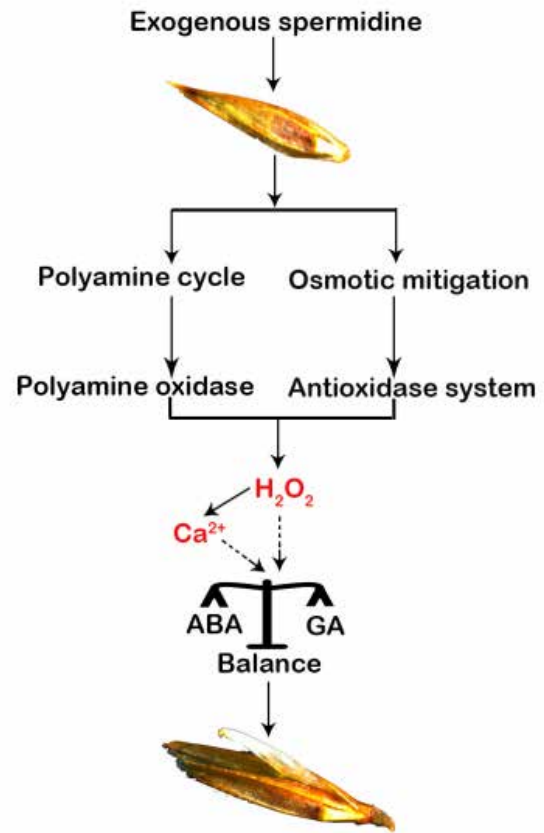


图 4. 盐碱胁迫条件下亚精胺介导羊草种子抗性的推测调控模型。

九、测试液

0.1 mM $CaCl_2$, 0.1 mM KCl , 0.1 mM $MgCl_2$, 0.5 mM $NaCl$, 0.3 mM MES, 0.2 mM Na_2SO_4 , pH 6.0

关键词：萌发；羊草；多胺氧化酶；盐碱胁迫；亚精胺；植物类

文献信息：Hongna Chen, Junmei Shi, Leyuan Tao, Xiaori Han, Guolin Lin, Xianguo Cheng. Exogenous Spermidine Priming Mitigates the Osmotic Damage in Germinating Seeds of *Leymus chinensis* Under Salt-Alkali Stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 2021, 2279.

(责任编辑：李雪霏)